

TINCIÓN DE ZIEHL NEELSEN

Trinidad Sabalette Moya

Centro de Enfermedades Infecciosas y Salud Internacional Granada- IAMA Málaga

FUNDACIÓN IO

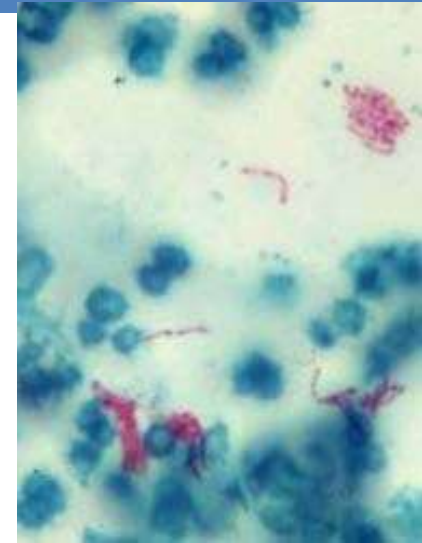
Objetivos

- Determinar la ácido alcohol resistencia de las micobacterias en muestras clínicas
- Diagnostico de pacientes bacilíferos
- Control del tratamiento

Tinciones

Ziehl-Neelsen

- 1) Colorante 1º: fucsina fenicada (carbolfucsina)
- 2) Contracolorante: azul de metileno o verde malaquita
- 3) Visualización con x1000
- 4) BAAR de 1-10µm de largo y 0.2-0.6µm de ancho



Variante de Kinyoun

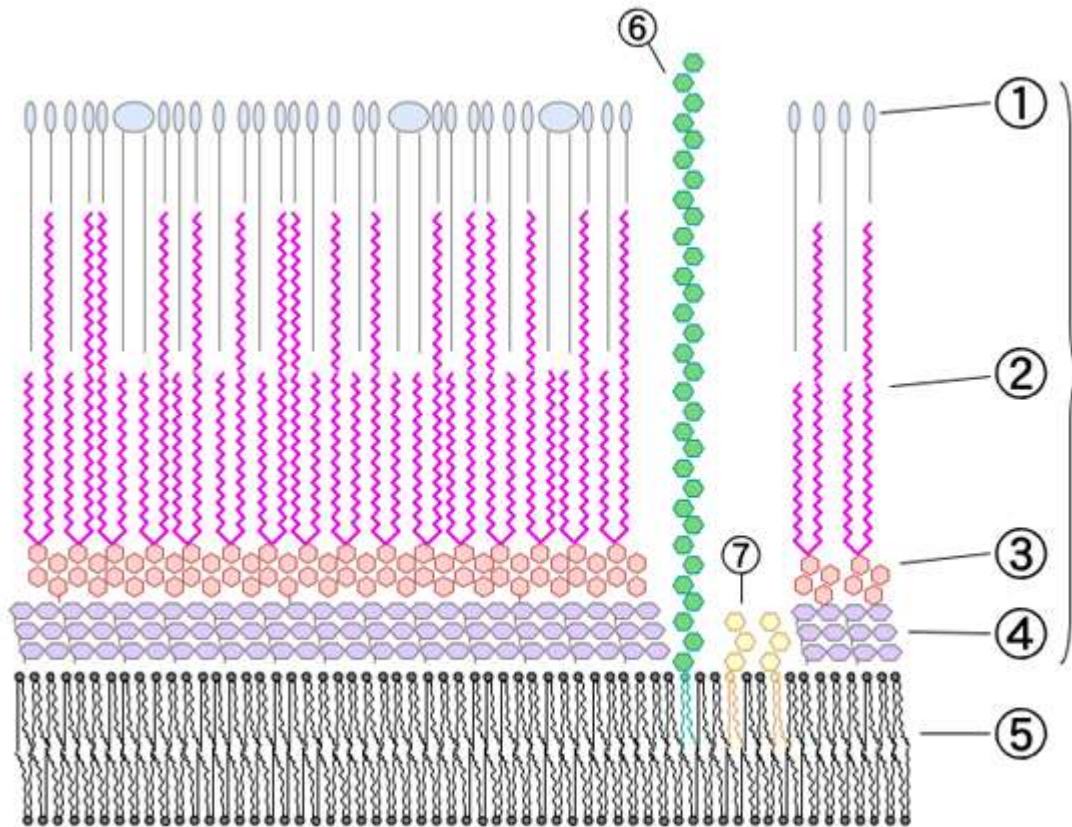
- 1) Cuerpos tensioactivos sin necesidad de calentar el colorante

Auramina

- 1) Colorante 1º: fluorocromo
- 2) Los microorganismos bajo luz UV aparecen fluorescentes
- 1) Visualización x250



Tinción de Gram: bacteria gram+ débil o como bacilos incoloros



Esquema de la pared celular

Escasa permeabilidad:

➤ Acido alcohol resistencia

1-lípidos externos

2-ácido micólico

3-polisacáridos (arabinogalactano),

4-peptidoglicano (moléculas de N-acetilglucosamina y ácido N-glucolilmurámico),

5-membrana plasmática

6-lipoarabinomannano (LAM),

7-fosfatidilinositol manosido

Material necesario para tinción de Ziehl Neelsen

- Porta
- Carbofucsina
- Decolorante (Alcohol ácido)
- Azul de metileno
- Aceite de inmersión
- Fuente de calor

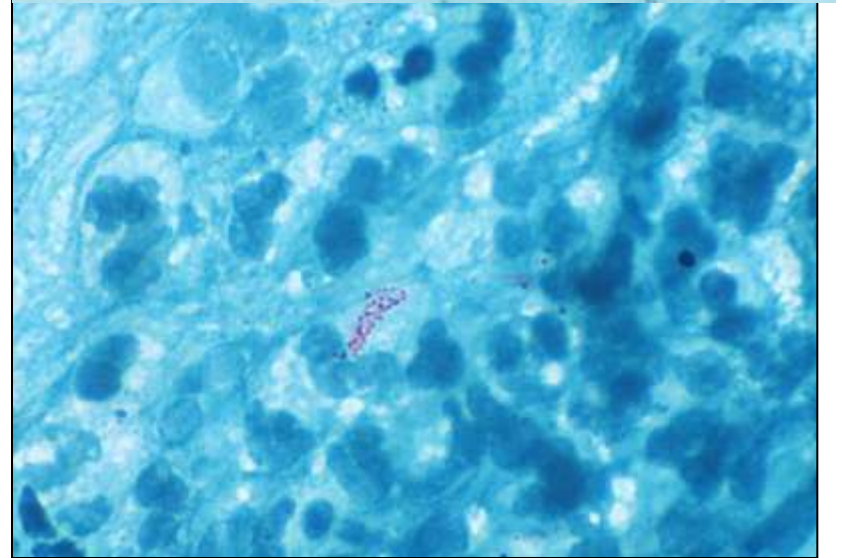
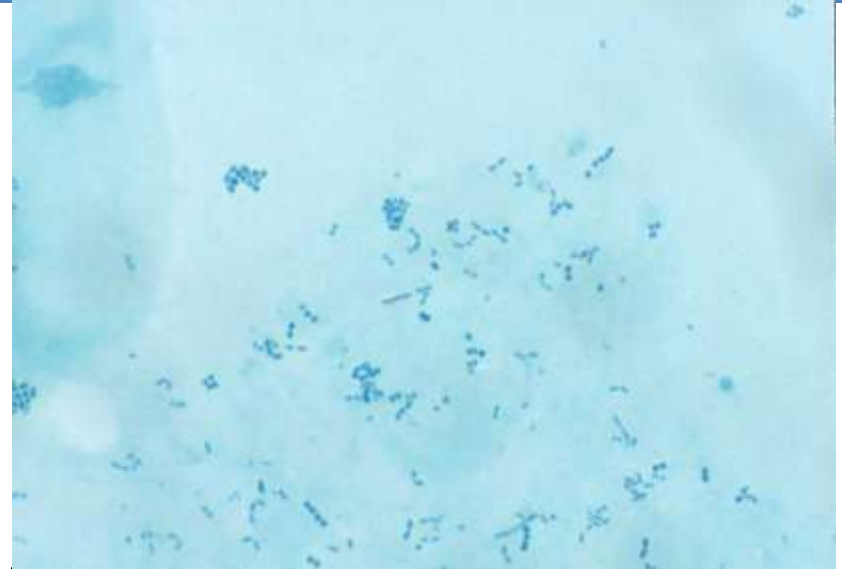


Preparación del frotis



Porción de saliva

Porción purulenta



Extensión de la muestra

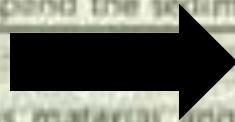


Grosor adecuado

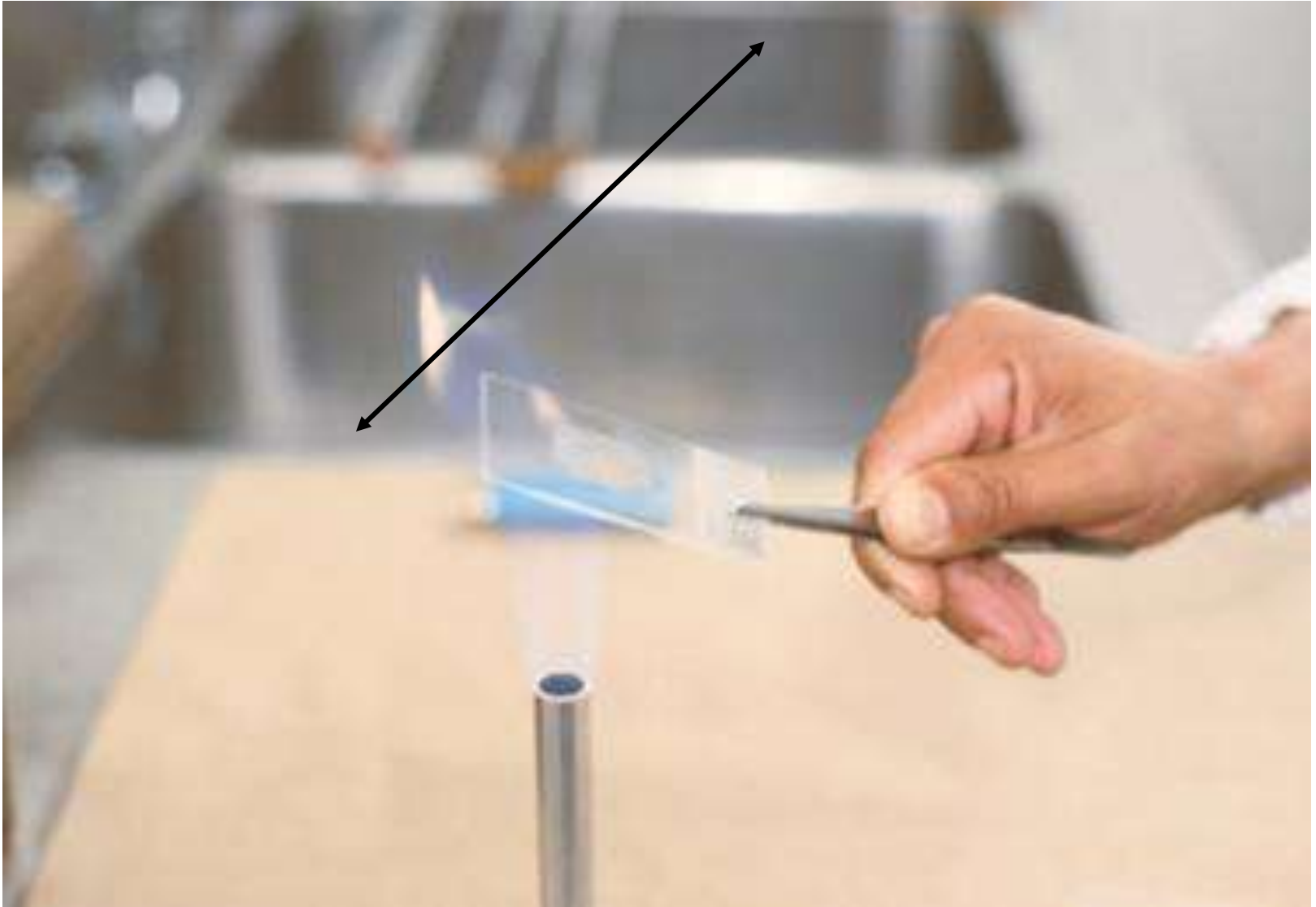
5. Centrifuge at about 2,000 x gravity for 15 min.
6. Pour off the supernatant and retain the sediment.
7. Resuspend the sediment in several drops of water and prepare the smear.

hypochlorite. This material and the crystals that form as the smear dries will wash off during staining, but the AFB will remain on the heat-fixed smear.

A direct or concentrated sputum smear should appear cloudy before staining. But it is too thick if you cannot read print in a newspaper through the smear when it is held 5 to 10 cm from the print. Smears that are too thick often wash off during staining or the



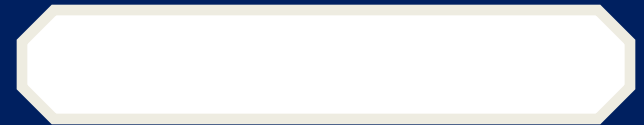
Fijación



Principios de la Tinción de ZN

AAR

No AAR



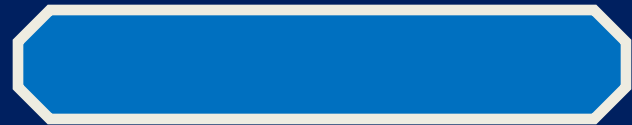
carbolfucsina



decolorante



Tinción de contraste



Carbol fucsina

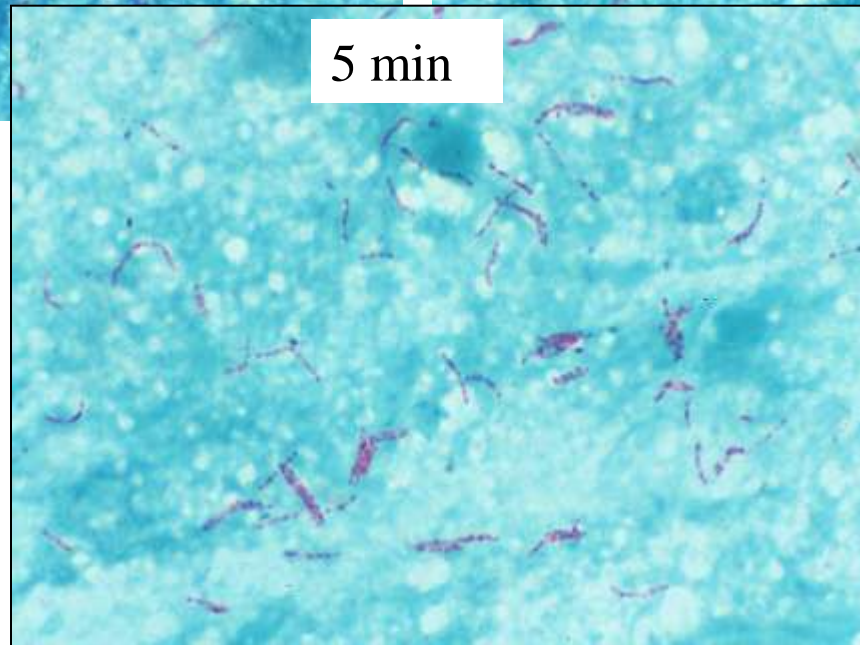
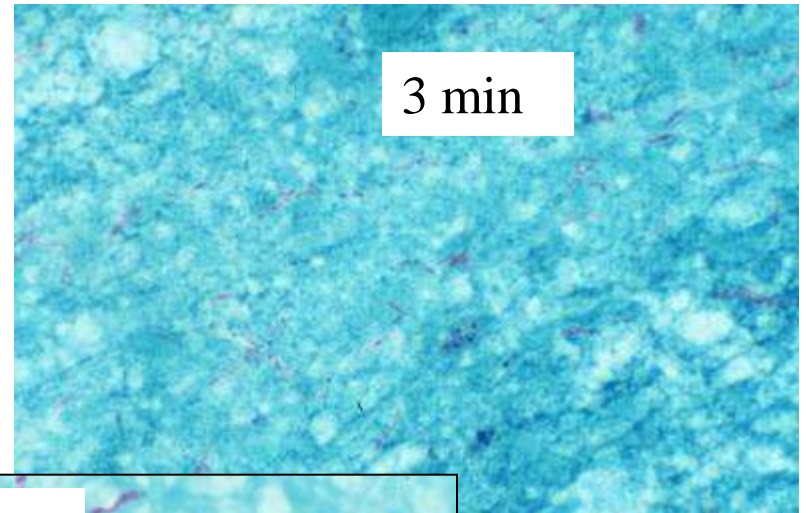
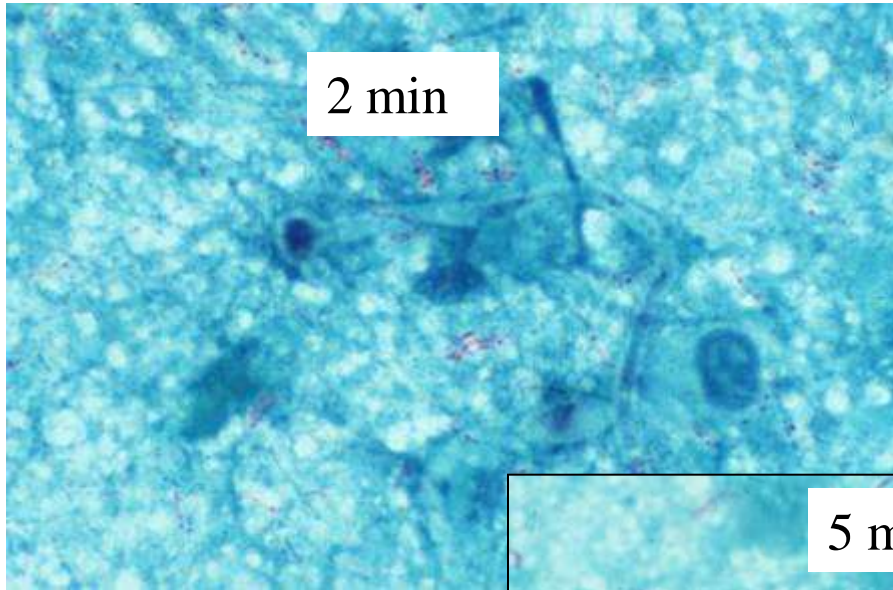


Calentar hasta la emisión de vapor



Mantener el calor 10 minutos
Evitar la ebullición
Dejar enfriar

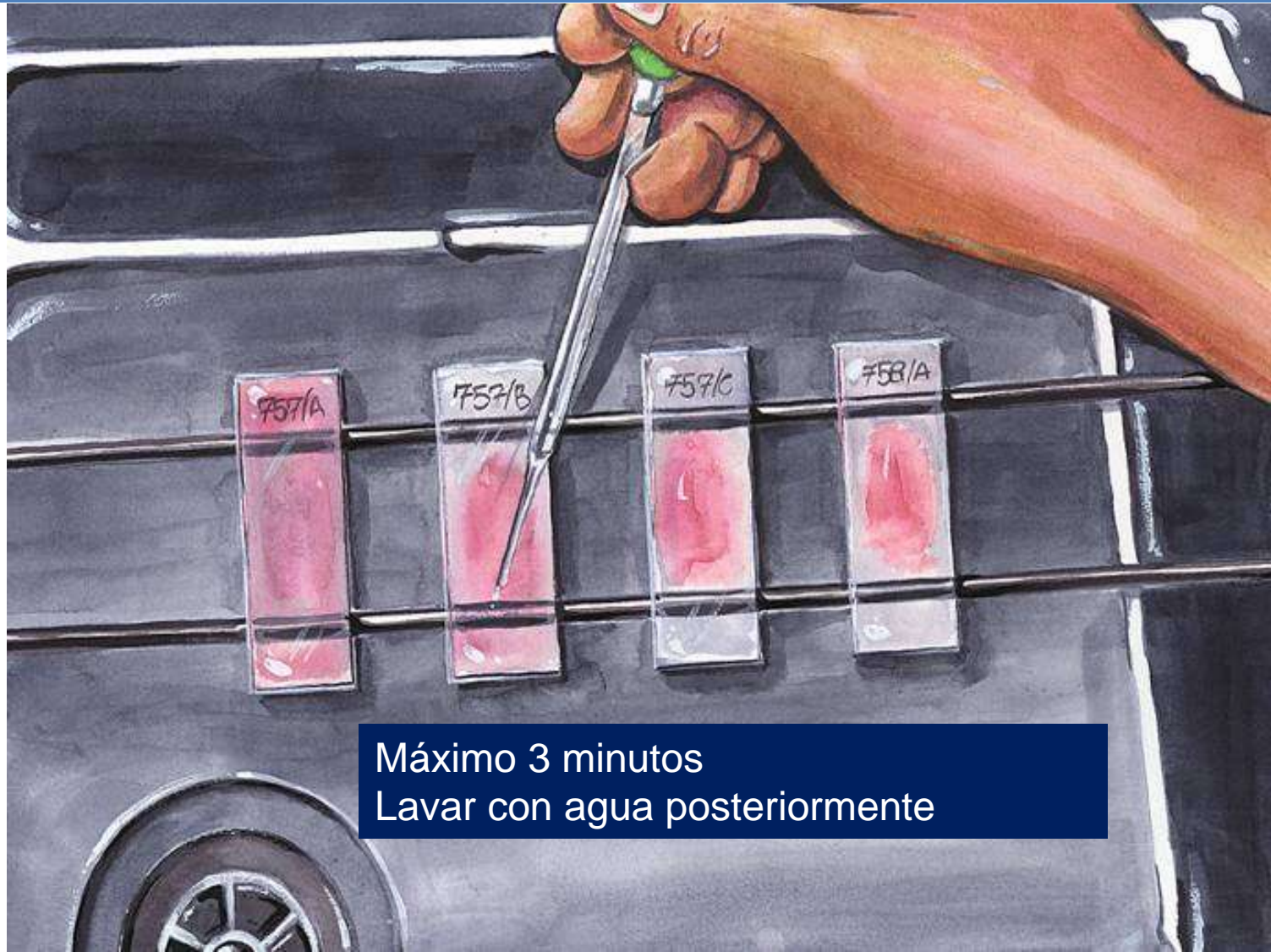
Resultado del tiempo de carbol fucsina en la intensidad de AAR



Lavar con agua

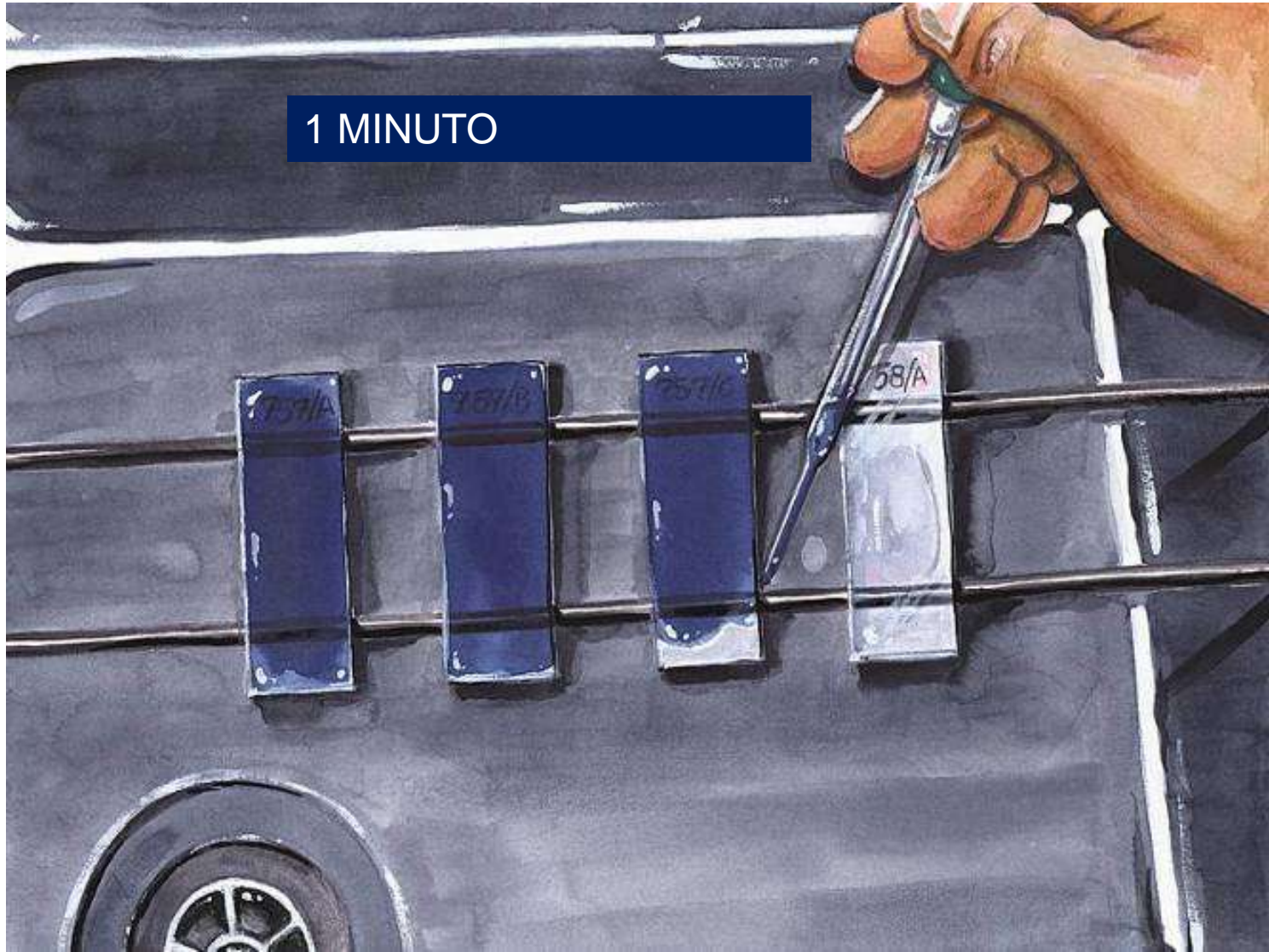


Decoloración con alcohol ácido

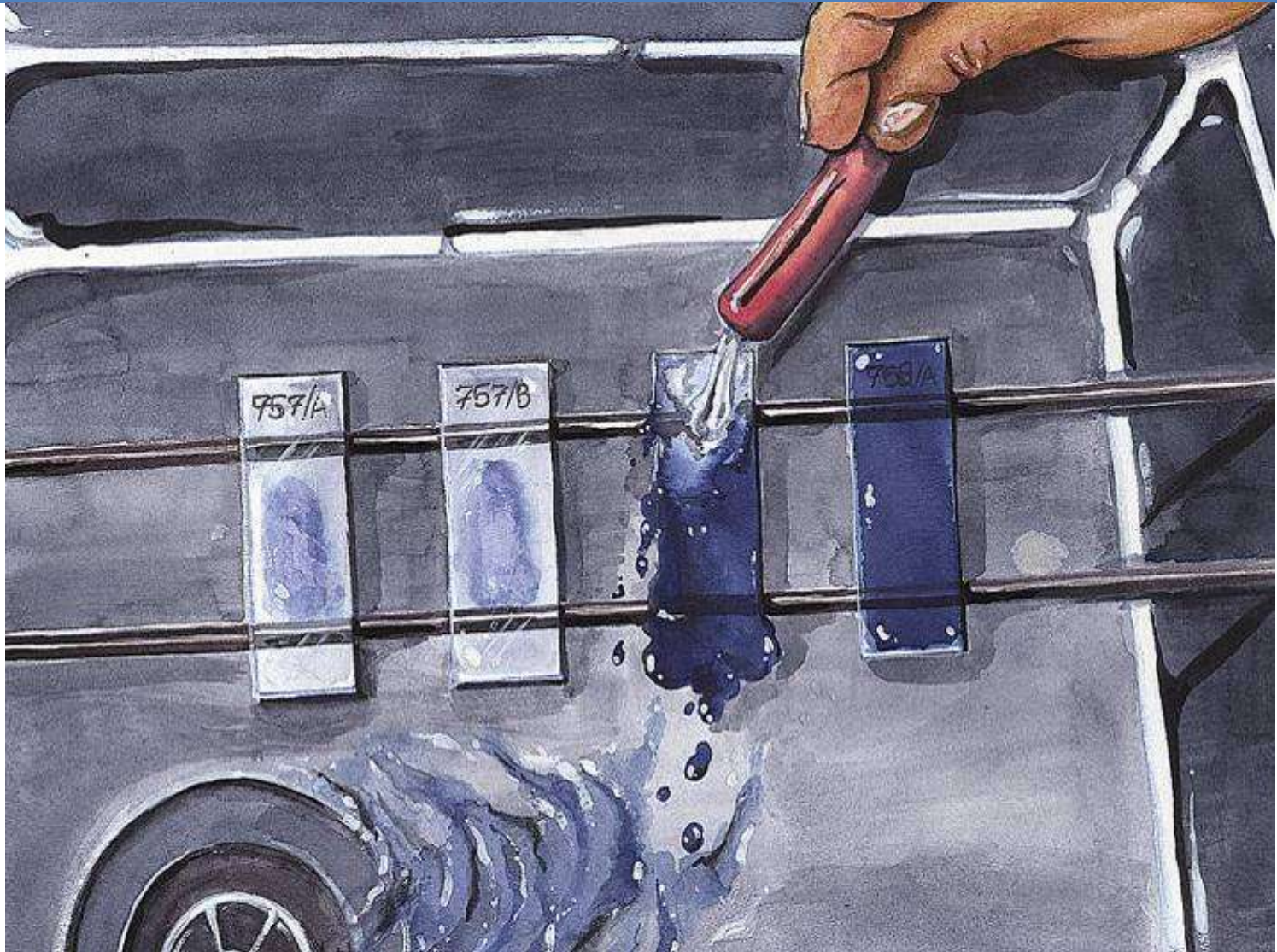


Máximo 3 minutos
Lavar con agua posteriormente

Tinción de contraste: azul de metileno



Enjuagar

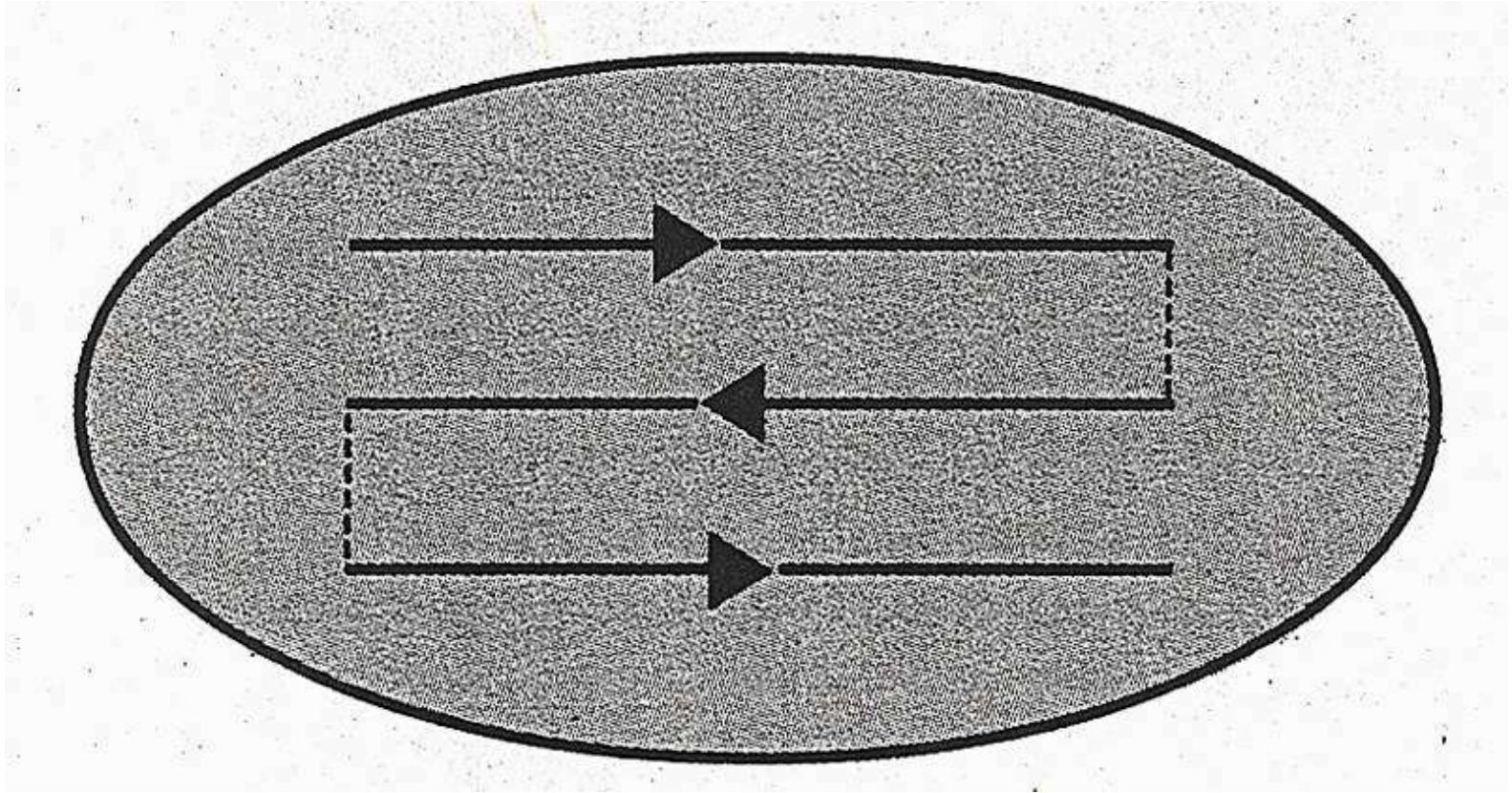


Secado



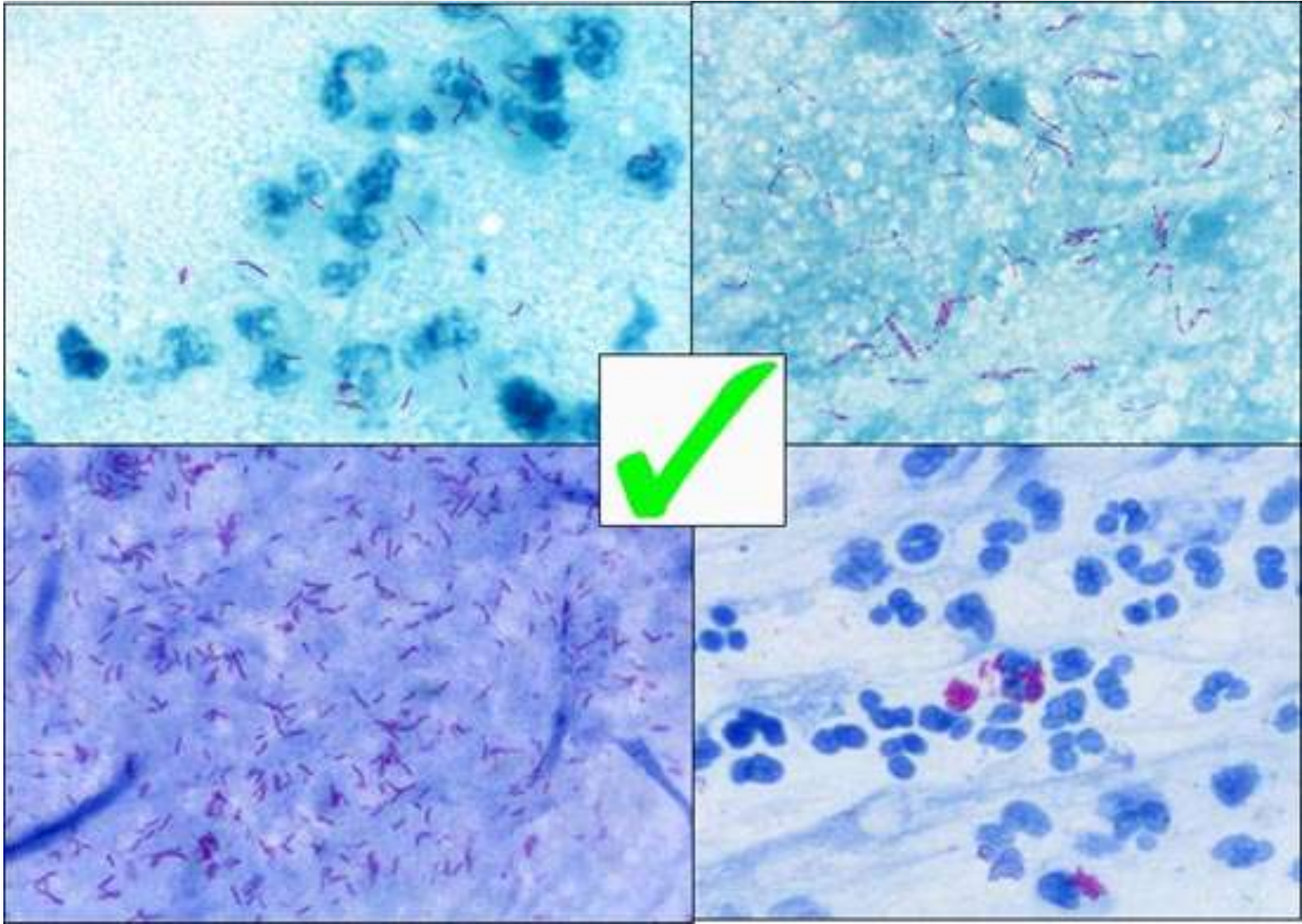
Examen sistemático de la extensión

19

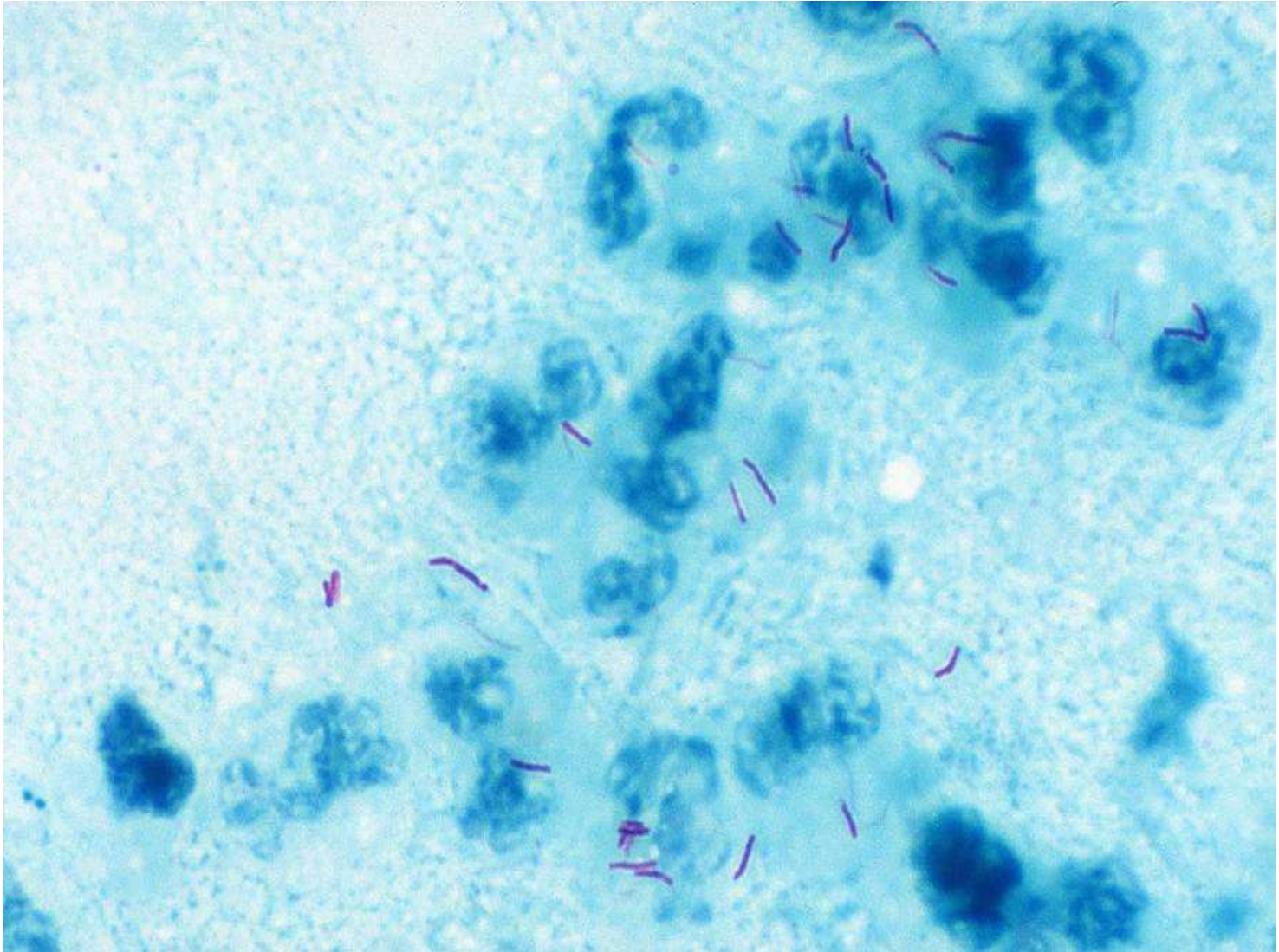


100 campos. 1000x

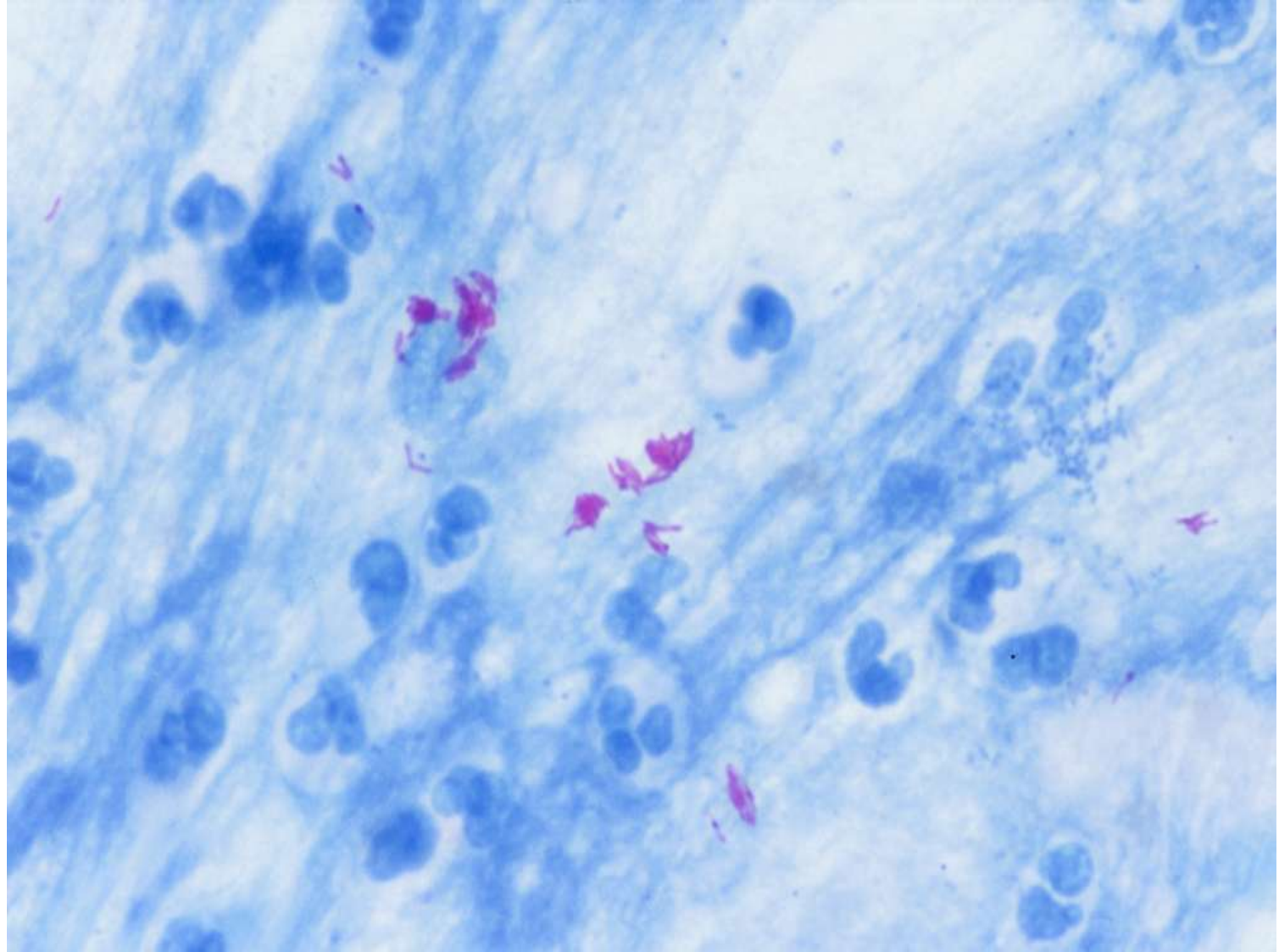
Buena calidad de la tinción



BAAR AISLADOS



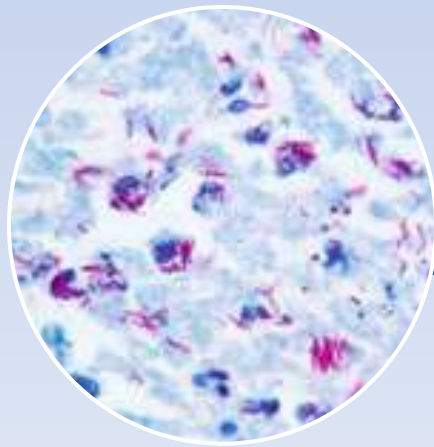
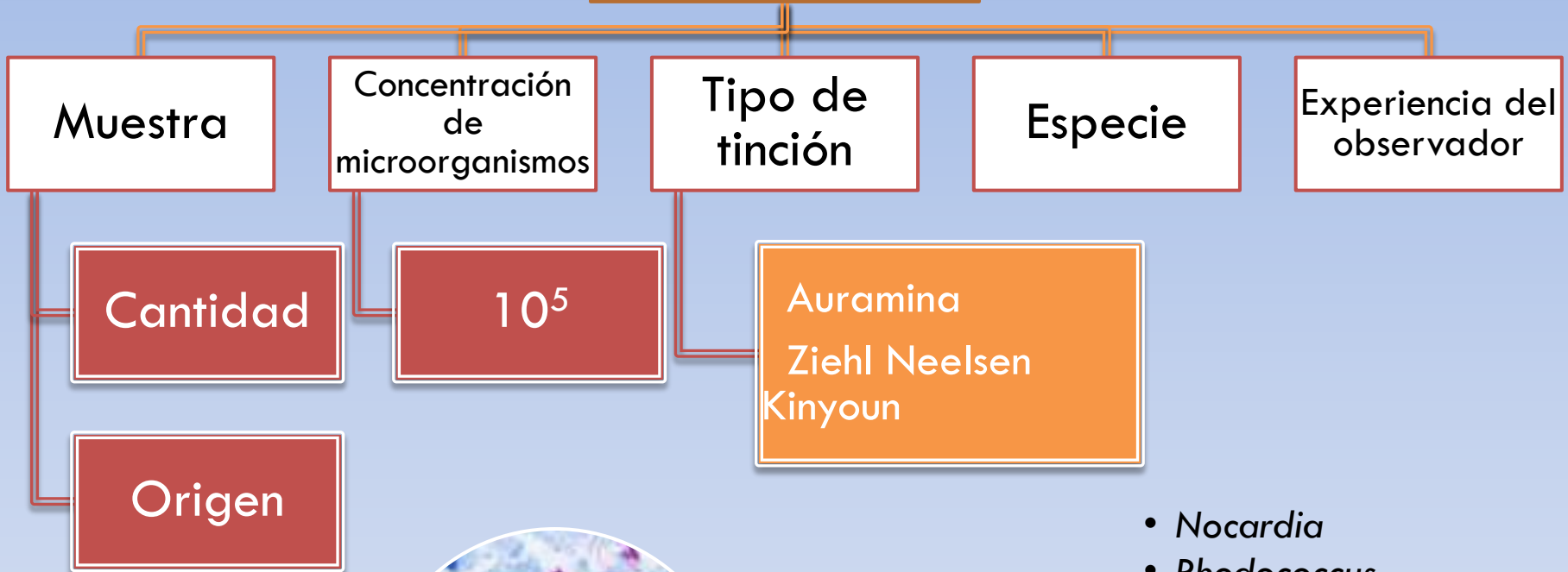
BAAR AGRUPADOS



WHO Escala de clasificación

Resultado	BAAR visualizados
Negativo	Ausencia de BAAR en al menos 100 campos
Número real	1–9 BAAR / 100 campos
1+	10–99 BAAR / 100 campos
2+	1–10 BAAR / al menos 50 campos
3+	Más de 10 BAAR / al menos 20 campos

Sensibilidad



Especificidad

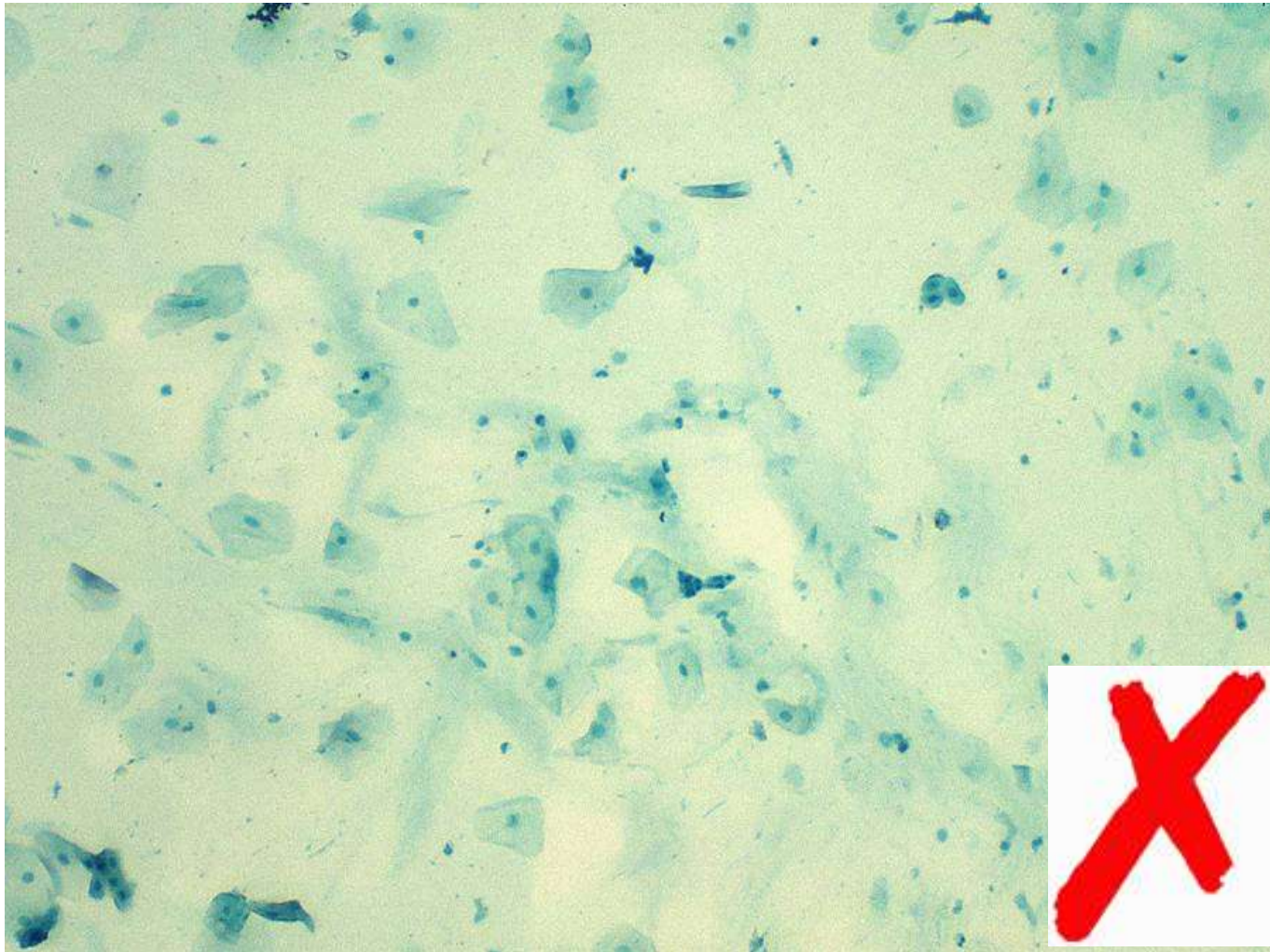
- *Nocardia*
- *Rhodococcus*
- *Tsukamurella*
- *Gordona*
- *Cryptosporidium*
- *Isospora*
- *Sarcocystis*
- *Cyclospora*

Errores

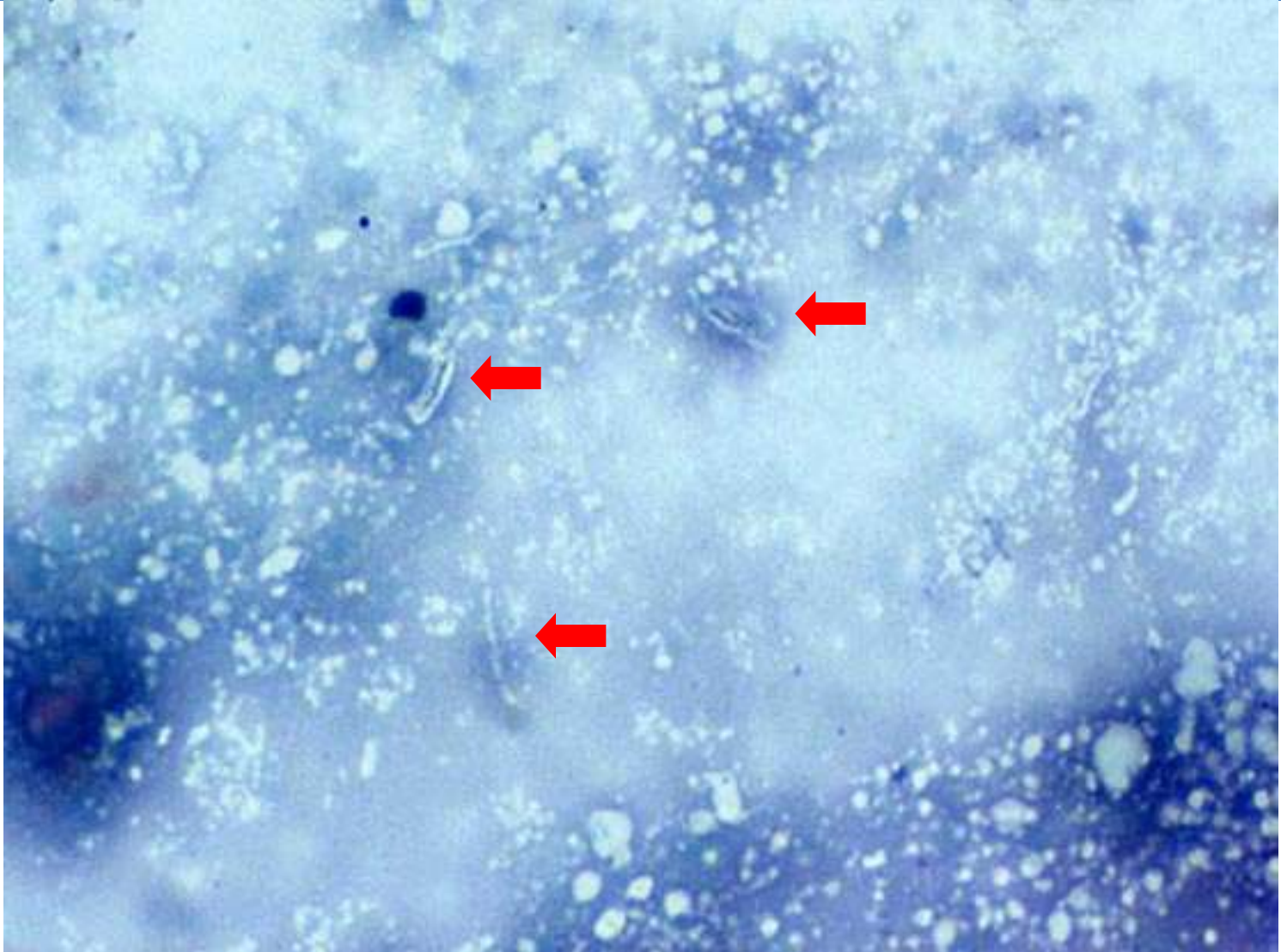
Falsos negativos: muestra no representativa, errores en la técnica de extensión y tinción.

Falsos positivos: restos de comida, precipitados del colorante, contaminación del portaobjetos

Tinción de mala calidad



Excesivo calor en la fijación del frotis



Uniformidad de la extensión



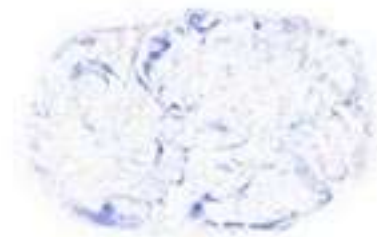
Bien



Bien



Desprendido



Desigual

Grosor del frotis



Correcto



Demasiado grueso



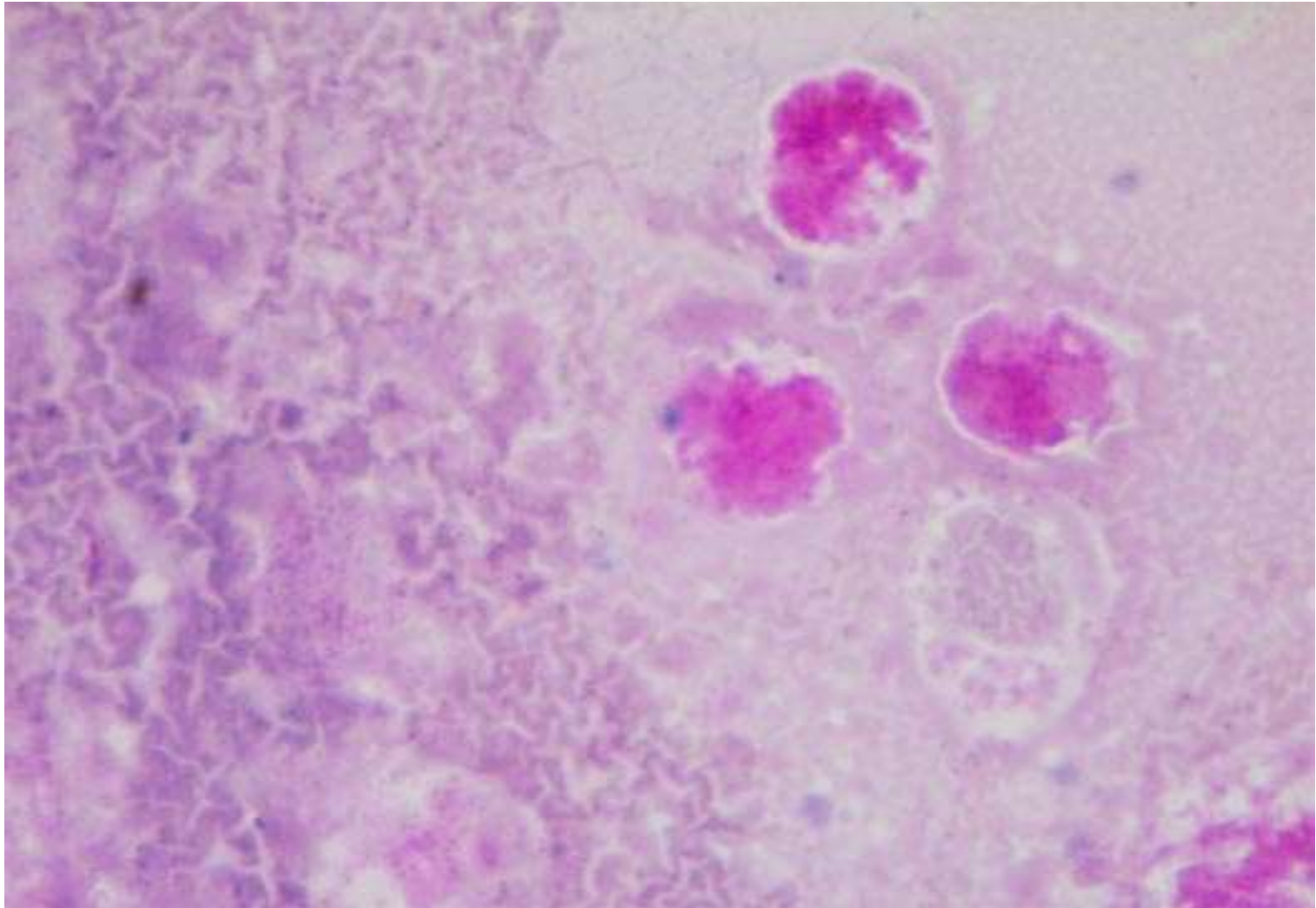
Demasiado fino

Causas de palidez de AAR

30

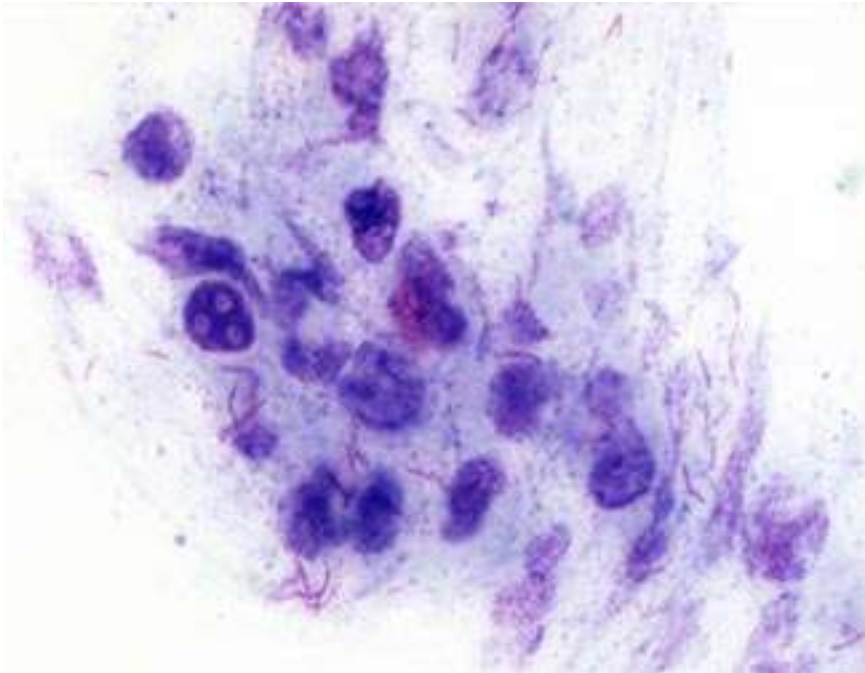
- Concentración de CF $<0.3\%$
- Tiempo de tinción menor de 5 minutos
- Inadecuado calentamiento de la fucsina
- Tiempo de exposición excesivo al decolorante alcohol ácido puede eliminar carbol fucsina de los BAAR

Insuficiente decoloración

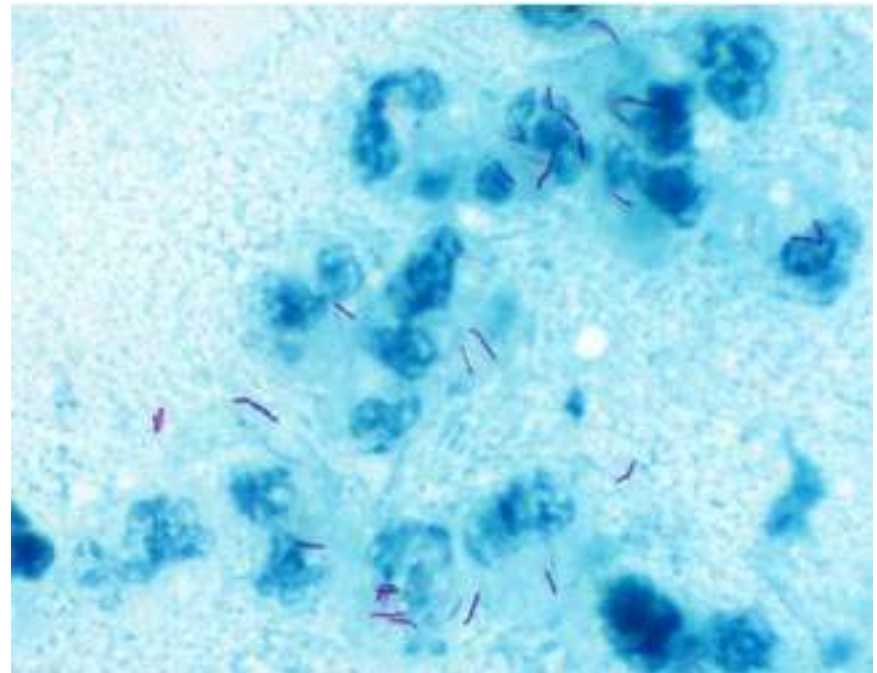


Importancia de una correcta decoloración

Insuficiente



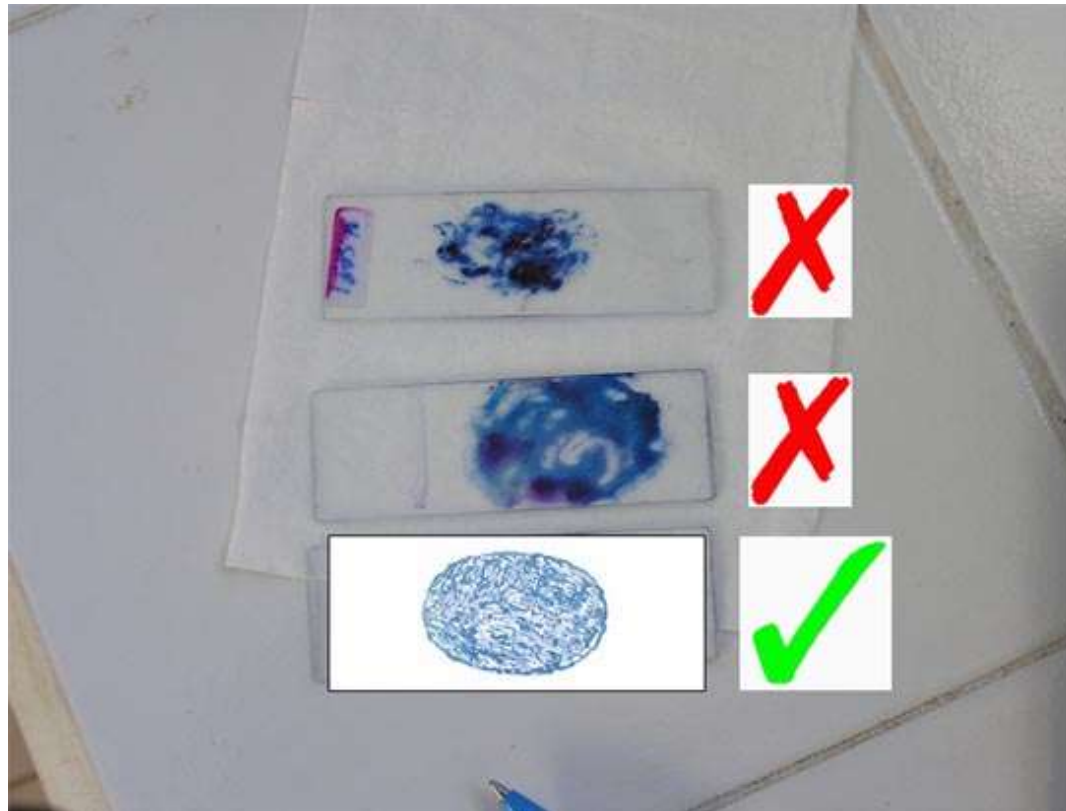
Correcta



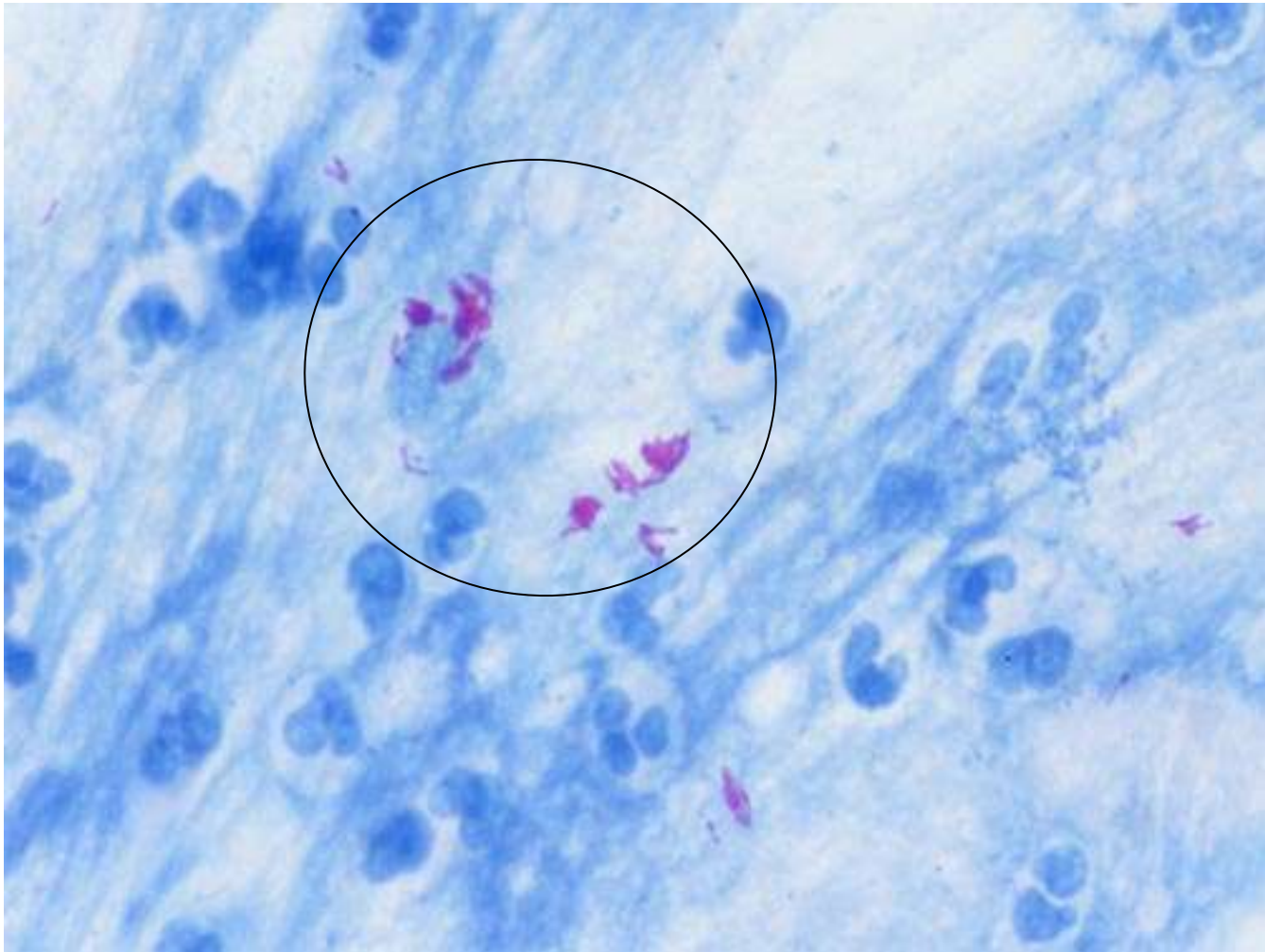
Causas de contratinción excesiva

33

- Dejar actuar el colorante más de un minuto
- Concentración de azul de metileno $> 0.3\%$



Buena calidad de contratinción



Efectos de una excesiva contratinción

